

Caracterização Morfológica e Química de Sementes de *Calophyllum brasiliense* Cambess.

Fernanda Carlota Nery¹, Amauri Alves de Alvarenga², Cristina Filomena Justo³, Evaristo Mauro de Castro², Vanessa Cristina Stein¹

Introdução

Calophyllum brasiliense é uma espécie arbórea da família *Guttiferae* (*Clusiaceae*), conhecida popularmente como guanandi, apresenta ampla distribuição natural, fornece madeira de boa qualidade, podendo ser empregada tanto na construção civil como naval. A resina que exsuda da casca, as folhas e a própria casca são empregadas na medicina tradicional em suas regiões de ocorrência. A espécie está na lista de espécies amazônicas que devem ser consideradas em programas de conservação de recursos genéticos *in situ* e *ex situ* [1; 2].

O conhecimento da composição química bem como a fisiologia das sementes de espécies florestais nativas são fundamentais no estabelecimento de protocolos para produção de mudas de qualidade para fomentar programas de recuperação de áreas degradadas. Dependendo do composto de reserva predominante, as sementes podem ser classificadas como amiláceas, oleaginosas ou protéicas [3]. A germinação e o potencial de armazenamento das sementes são influenciados pelo conteúdo dos compostos presentes nas mesmas [4]. Conhecer os mecanismos de acúmulo de reservas é fundamental para a obtenção de plantas de maior vigor [5].

Os estudos morfológicos auxiliam na identificação botânica da espécie, a interpretação dos testes de laboratório e o reconhecimento da espécie em bancos de sementes do solo e em fase de plântulas em formações florestais. Estas análises contribuem para o estudo dos mecanismos de dispersão, sucessão e regeneração natural da espécie [6].

O sucesso do reflorestamento e da implantação de sistemas agroflorestais depende de informações básicas sobre as espécies que compõem os diferentes arranjos florestais. Diante do exposto, objetivou-se neste estudo, caracterizar morfológicamente e quimicamente sementes de *C. brasiliense*.

Material e métodos

A. Material vegetal

Frutos maduros de *C. brasiliense* foram coletados na época da dispersão no mês de agosto de 2004, em árvores matrizes localizadas no município de Carrancas, MG (21°29'S e 44°39'W GRW).

Os frutos foram transportados para o Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas do Departamento de Biologia (DBI/UFLA), onde foram despolidos.

O teste histoquímico foi realizado no Laboratório de Anatomia Vegetal (DBI/UFLA) e a determinação da composição química realizada no Departamento de Ciência dos Alimentos (UFLA).

B. Teste histoquímico

O endocarpo dos frutos foi submetido a cortes manuais de seções transversais e posterior coloração com safranina e floroglucinol. Os cotilédones foram submetidos a cortes transversais para determinar o tipo de reserva, utilizando-se lugol, para detectar a presença de amido e Sudan III, para a identificação de corpos lípidicos [7]. Seguiu-se o preparo de lâminas provisórias e semipermanentes, segundo técnicas descritas por Johansen [8]. As observações foram realizadas em microscópio de luz Olympus CBB.

C. Composição química

Para a determinação da composição química, as sementes foram congeladas em nitrogênio líquido e conservadas em ultra-freezer (-92°C), sendo posteriormente moídas em moinho da marca Tecnal modelo TE613/1, refrigerado a 4°C.

Foram realizadas determinações do grau de umidade, extrato etéreo, resíduo mineral fixo e proteína bruta (N total) conforme métodos descritos em AOAC [9]. A fibra bruta foi determinada segundo Vande Kamer & Van Ginkel [10]; o teor de amido obtido segundo método de Somogy, adaptada anteriormente por Nelson [11]. Açúcares redutores e não redutores foram extraídos pelo método de Lane-Enyon [9] e determinados pela técnica de Somogy, adaptada anteriormente por Nelson [11].

Resultados e discussão

A. Morfologia e anatomia das sementes de *C. brasiliense*

Nesta espécie, os diâmetros dos frutos variaram de 13,96 a 15,59mm. As sementes de *C. brasiliense* são envolvidas por uma fina camada de tegumento. Os tecidos do fruto podem ser subdivididos em exocarpo, mesocarpo e endocarpo (Fig. 1). A unidade de dispersão

¹ Doutoranda em Agronomia/Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, cx. postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: fernandacarlota@yahoo.com.br

² Professor Dr., Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, cx. postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

³ Professora do Depto. de Ciências Biológicas e da Saúde, Instituto de Ciências e Letras do Médio Araguaia, Universidade Federal do Mato Grosso, CEP 78698-000, Pontal do Araguaia – MT.

Apoio financeiro: Capes

é o fruto inteiro.

No endocarpo dos frutos de *C. brasiliense*, há uma espessa camada de esclerênquima que pode atuar

como barreira à retomada do crescimento do embrião durante a germinação das sementes.

Anatomicamente, o endocarpo apresenta duas diferentes camadas, sendo a mais externa constituída por células estreitas e longas em paliçada (Fig. 2A, seta); enquanto o tecido mais interno é formado por células de formato irregular, com paredes espessas e células bastante volumosas (Fig. 2B).

Segundo Popinigis [12], a embebição e as trocas gasosas das sementes podem ser impedidas devido à presença dessa camada de células paliçádicas com paredes espessas e recobertas por substâncias hidrófobas. Portanto o endocarpo de frutos constitui numa barreira importante à embebição e germinação de sementes de *C. brasiliense* (Fig. 2A-B).

As células dos cotilédones são volumosas, sendo preenchidas por inúmeros de grãos de amido (Fig. 2C), além da presença de gotículas de lipídeos (Fig. 2D). Vieira [6] também observou grãos de amido ocupando as células dos cotilédones de sementes de *Cupania vernalis*.

Sementes de *C. brasiliense* provenientes da Costa Rica apresentam embrião completo que preenche todo o espaço delimitado pelo tegumento. Ele é grande, bem desenvolvido e maciço, o mesmo ocorrendo com o hipocótilo, a radícula é pequena e densa, enquanto o endocarpo é rígido e o tegumento delgado e macio [13].

B. Composição química das sementes de *C. brasiliense*

As sementes maduras de *C. brasiliense* têm aproximadamente 45,6% de umidade.

O embrião dessa espécie apresenta $24,5 \pm 0,85\%$ de extrato etéreo, portanto a semente pode ser classificada como oleaginosa. As sementes colocadas para germinar liberam uma goma-resina esverdeada. O amido representa $10,6 \pm 1,02\%$ dos constituintes da semente, sendo o principal componente de reserva. Os conteúdos de proteína bruta (N total) e de fibra bruta foram, respectivamente, $6,8 \pm 0,25\%$ e $3,34 \pm 0,14\%$, sendo o resíduo mineral fixo $2,13 \pm 0,26\%$. Os açúcares solúveis totais representaram $2,27 \pm 0,05\%$ da composição da semente, subdivididos em açúcares não-redutores e redutores ($1,76 \pm 0,05\%$ e $0,42 \pm 0,01\%$, respectivamente).

Sementes de *C. brasiliense* oriundas da Costa Rica contêm 38% a 39% de lipídeos, 24% a 26% de carboidratos, 7% a 8% de proteína e 28% de teor de água, valores estes próximos aos encontrados neste trabalho [13].

Mourão & Beltrati [14] relataram que o embrião das sementes de *Vismia guianensis* (Clusiaceae) é rico em material lipídico, semelhante ao encontrado para *C. brasiliense*.

É importante ressaltar que as sementes oleaginosas apresentam menor potencial de armazenamento que as amiláceas, devido à menor estabilidade química dos lipídios em relação ao amido. Por esse motivo, as sementes oleaginosas devem ser armazenadas com grau de umidade inferior ao recomendado para as amiláceas. O teor elevado de proteínas também pode contribuir para a redução do

potencial de armazenamento, devido à elevada afinidade dessa substância com a água [3].

Para sementes de *C. brasiliense*, a protusão da radícula ocorre entre 18 a 20 dias, com um insignificante desenvolvimento dos cotilédones aos 24 dias. O desenvolvimento da plúmula e do epicótilo ocorre aos 28 e 26 dias, respectivamente. A germinação das sementes de *C. brasiliense* é do tipo hipógea, com emergência vertical ereta e plântula criptocotiledonar [13; 2].

As fases da germinação são ilustradas na Figura 3. A embebição das sementes só foi possível por meio da remoção do endocarpo. Esse tipo de barreira é limitante para a germinação e a homogeneidade das plântulas e está relacionado ao tempo de formação das mudas. O mesmo fato foi observado por Vieira [6], pois houve necessidade da remoção do tegumento das sementes da espécie *Cupania vernalis* para permitir a germinação.

A germinação ocorre após a hidratação dos cotilédones e do eixo embrionário. Inicialmente, a raiz primária apresenta-se cônica, reta, de cor clara e, à medida que ocorre o alongamento e a diferenciação celular, ela adquire cor marrom-amarelada.

O hipocótilo é cilíndrico, espesso, curto e de coloração marrom. Os cotilédones, inicialmente, são de cor amarelo-claro e a medida que a plântula vai desenvolvendo, eles se tornam esverdeados, são espessos, de forma curta e peciolados, côncavo-convexos com formato ovado. O epicótilo é bem pouco desenvolvido e clorofilado.

A plântula apresenta sistema radicular pivotante, com raiz primária axial, sublenhosa, mais espessa na base e afilada no ápice; coifa cilíndrica, castanho-clara, raízes secundárias longas, com poucas ramificações. As plântulas de *C. brasiliense* possuem sistema radicular axial e ramificam-se secundariamente 30 dias após a germinação, sendo, ainda, caracterizadas do tipo criptocotiledonar, ou seja, permanece com os cotilédones nos restos seminiais, encerrados no solo. O colo ou coleto é visível pela diferença de cor entre o hipocótilo clorofilado e a raiz aclorofilada. O primeiro par de folhas completamente expandidas foi observado aos 60 dias após a germinação, com filotaxia alterna-helicoidal.

Conclusões

As sementes de *C. brasiliense* têm elevada umidade, sendo provavelmente recalcitrantes. O alto teor de extrato etéreo está relacionado com a presença de resina e lipídeos. O amido é a principal reserva da semente, as proteínas representam uma fonte secundária de reservas, seguida por um baixo conteúdo de açúcares. Os conteúdos de fibra bruta e resíduo mineral fixo também são baixos. Anatomicamente verificou-se a presença de amido e gotículas de lipídeo nos cotilédones das sementes. A germinação é do tipo hipógea, sendo a plântula criptocotiledonar.

Referências bibliográficas

- [1] LORENZI, H. 1998. *Árvores brasileiras: manual e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Plantarum. 352p.
- [2] CARVALHO, P.E.R. 1994. *Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais potencialidades e uso da madeira*. Colombo: EMBRAPA/CNPq; Brasília: EMBRAPA/SPI. 640 p.
- [3] MARCOS FILHO, J. 2005. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: Fealq. 495p.
- [4] NAKAGAWA, J. et al. 1990. Efeitos de adubos fosfatados e de métodos de aplicação na cultura do amendoim. *Revista Brasileira de Sementes* 12 (3): 28-39.
- [5] FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Org.). 2004. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artemid, 323p.
- [6] VIEIRA, C.V. 2005. *Sensibilidade à dessecação, armazenamento, germinação e morfologia de sementes de Cupania vernalis Camb.* 65p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG.
- [7] KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Rio de Janeiro: EDUR. 198p.
- [8] JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. 2.ed. Bombay: Tata McGraw-Hill Book.
- [9] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 1990. *Methods of the association of official analytical chemists*. 15.ed. Washington, 684p.
- [10] VANDE KAMER, S.B.; VAN GINKEL, L. 1952. Rapid determination of crude fiber in cereals. *Cereal Chemistry* 19(4): 239-251.
- [11] NELSON, N.A. 1944. Photometric adaptation of somogy method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemists* 153(1): 375-384.
- [12] POPINIGIS, F. 1985. *Fisiologia da semente*. Brasília: AGIPLAN, 289p.
- [13] FLORES, E.M. 2002. *Calophyllum brasiliense Cambess.* In: VOZZO, J.A. (Ed.). *Tropical tree seed manual*. Washington, USDA Forest Service, p.353-356. (Agriculture Handbook, 721).
- [14] MOURÃO, K.S.M.; BELTRATI, C.M. 2001. Morphology and anatomy of developing fruits and seeds of *Vismia guianensis* (AUBL.) Choisy (Clusiaceae). *Revista Brasileira de Biologia* 61(1).

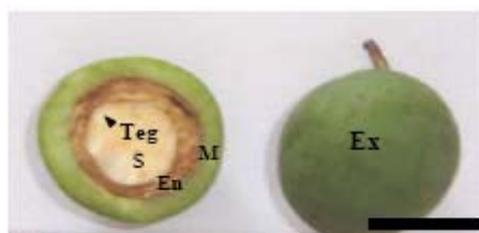


Figura 1. Aspecto do fruto de *C. brasiliense* Cambess., evidenciando o exocarpo (Ex), o mesocarpo (M), o endocarpo (En), semente (S) e a seta indica o tegumento (Teg) da semente. Barra corresponde a 2 cm.

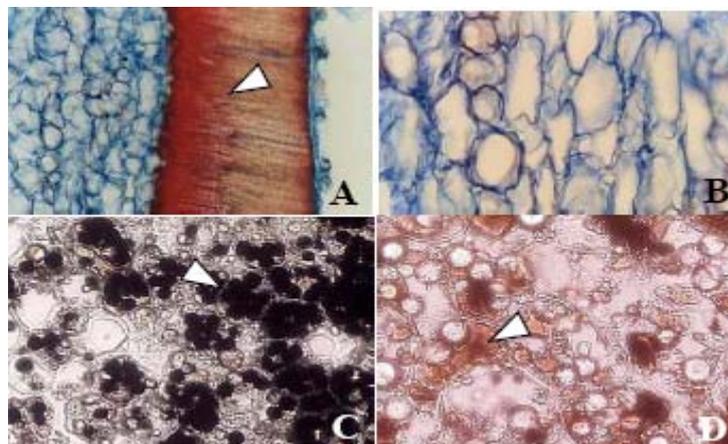


Figura 2. Fotomicrografia da seção transversal do endocarpo do fruto de *C. brasiliense* Cambess., evidenciando a densa camada de esclerênquima (A) (100X). Aspecto das células mais internas do endocarpo (B) (200X). Tecido cotiledonar corado com Lugol (C) (400X) e Sudan III (D) (400X) evidenciando grãos de amido e gotículas de lipídeo, respectivamente (pontas de seta).

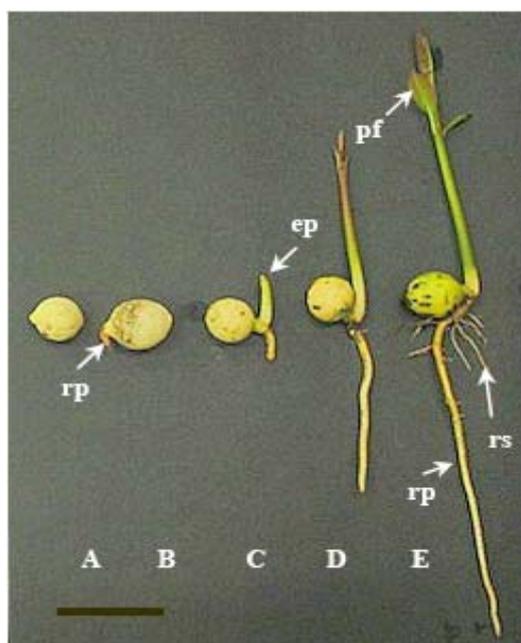


Figura 3. Documentação das fases da germinação de sementes de *C. brasiliense* Cambess. sem tegumento até o estágio de plântula. A – protrusão da raiz primária, B – alongamento da raiz primária, C-D – alongamento do epicótilo, E – primórdios foliares em fase de expansão e emissão das raízes secundárias. rp – raiz primária, ep – epicótilo, pf – primórdio foliar, rs – raízes secundárias. Barra = 3cm